蝶と蛾 *Trans. lepid. Soc. Japan* **59** (3): 194–200, June 2008

ヒメヒョウモン亜族 (Boloriini) の蝶 13 種の染色体調査

阿部　東[1]・Evgenyi Novomodnyi[2]・熊谷義則[3]

[1] 036-8336　青森県弘前市栄町 4-12-2
[2] Russia Khabarovsk regional lare Museum, 11 Shevchenko-St., Khabarovsk 680000, Russia
[3] 036-8142　弘前市松原西 2-6-14

Chromosome survey of 13 species of Boloriini (Nymphalidae, Lepidoptera)

Azuma Abe[1], Evgenyi Novomodnyi[2] and Yoshinori Kumagai[3]

[1] 4-12-2 Sakaemachi, Hirosaki-shi, Aomori Pref., 036-8336 Japan
[2] Russia Khabarovsk regional lare Museum, 11 Shevchenko-St., Khabarovsk 680000, Russia
[3] 2-6-14 Matsubara-nishi, Hirosaki-shi, Aomori Pref., 036-8142 Japan

Abstract Male germ-line chromosomes were examined in thirteen species of the Boloriini, Nymphalidae. 2*n*=60–62, *n*=30–32 were observed basically, and 2*n*=48, *n*=24 were seen in *Clossiana distincta*, where 10–12 (2*n*), 5–6 (*n*) elements of large chromosomes were included.

Key words *Issoria*, *Boloria*, *Proclossiana*, *Clossiana*, chromosome.

序

ヒメヒョウモン類は寒冷地に適応したヒョウモンチョウの1グループであり，雄交尾器の形が比較的単純で大型ヒョウモン類のようには特化が進んでいないと考えられている．染色体研究はヨーロッパ産を中心に12種について報告されている (Table 2). 12種中 *Clossiana eunomia* (*Proclossiana eunomia*) *n*=28を除く，11種は *n*=30又は *n*=31であり，タテハチョウ科 (Nymphalidae) における最頻染色体数 *n*=31 (*n*=30) に等しい．また *n*=31 は *Argyronome* 属 (Maeki & Remington 1960; 阿部, 2005), *Childrena* (阿部, 2005) に見られ，*Boloria, Clossiana* 属と共に染色体数から見て，祖先型に近いものと考えられる．*Fabriciana*, *Argynnis* などが *n*=29であり，ヒメヒョウモン類における *n*=31, 30とは染色体数では少し異なるだけであるが，形態的にはかなり離れたグループとして扱われている (Shirôzu & Saigusa, 1973).

Boloriini について，核型の分析から系統の進化を考えるにはまだ染色体が調べられている種類数も精度も不足である．これからも調査を積み重ねる必要がある．本報告では，これまで調べられている種のうち5種について，一部では2nの染色体観察を加え，再確認し8種については新知見を報告する．

材料と方法

材料として処理した個体数はどの種も10♂を越すが，染色体を観察出来た材料についてのみ採集地ならびに採集データを Table 1 に示す．いずれも各地で採集した成虫の精巣を用いた．成虫における精巣の色彩はアズキ色 (Reddish-brown) で，個体により濃淡の変異が見られるが，種による安定した差異は認められなかった．染色体標本の作製は，阿部 (2005) を参照されたい．パラフィン切片法及びクロージア法を用いた．

尚，*C. disticta tschukotkensis* を，Gorbunov (2001) はバイカル湖，モンゴルなどに分布するものと同じく *C. tritonia* として扱っている．

観　察

クロージア法では精原細胞の分裂による (G と省略) 2*n* の染色体，及び減数第1分裂 (I と省略)，第2分裂 (II と省略) による *n* の染色体を観察し，観察細胞数をそれぞれ G, I, II に下付の数字で示した．2*n*, *n* の

Table 1. Locality and the date of materials.

Species	date	locality	
Boloria generator (Staudinger)	2. VI. 2004	Issyk-Kul, Kyrgiztan	2♂
	4. VII. 2004	Issyk-Kul. Kyrgiztan	7♂
	8. VII. 2004	Issyk-Kul, Kyrgiztan	2♂
B. napaea altica (Grum-Grshimailo)	3–4. VIII. 1994	Huvsgul, Mongolia	11♂
Issoria lathonia (Linnaeus)	9. VI. 2002	Panwa, Sabah, Myanmar	1♂
	4. VII. 2004	Issyk-Kul, Kyrgiztan	1♂
Clossiana a. angarensis (Erschoff)	3. VIII. 1994	Huvsgul, Mongolia	1♂
C. hegemone (Staudinger)	2, 4, 7. VIII. 2004	Issyk-Kul, Kyrgiztan	9♂
C. erda (Christoph)	20. VI. 2001	Atka, Magadan, Russia	4♂
C. euphrosyne orphana (Fruhstorfer)	3. VIII. 1992	Khabarovsk, Russia	1♂
	19. VI. 2001	Palatka, Magadan, Russia	1♂
C. freija jakutensis (Wnukowsky)	19. VI. 2001	Palatka, Magadan, Russia	3♂
C. oscarus maxima (Fixsen)	18. VI. 2001	Razodol'noe Primorye, Russia	1♂
C. selenis chosensis (Matsumura)	3. VIII. 1993	Burelomnyi, Russia	2♂
C. iphigenia sachalinensis (Matsumura)	24. VI. 2000	Nisechairomap, Hokkaido, Japan	1♂
C. thore jesoensis (Matsumura)	24. VI. 2000	Lubeshinai, Hokkaido, Japan	2♂
C. distincta tschkotkensis (Wyatt)	25. VI. 2005	Baruchacyit, Verhojansk, Russa	4♂
	26. VI. 2005	Adyiachchyi, Verhojansk, Russa	

染色体数に続けて, 大型染色体 (Lとする) 及び小型 (Sとする) のマーカーとなる染色体の数をL, Sの下付数字で示し染色体構成について記録した.

1. *Boloria generator* (Staudinger)

2n=62 L_2 S_4 G_{32} (Figs 1A, 1B). 1Aには染色体数が鮮明な分裂像, 1Bにはそれより早い染色体の大きさがわかりやすい像を示した. 1BではL_2は (線で示す) よくわかるがS_4は特定できないことが多い (1Aの短い線). G, 2nの染色体を切り抜き似た大きさのものを2個ずつ大きさの順に並べた仮の核型 (Fig. 1E) を示した. 染色体番号No. 1が大きく, 30, 31番が他より少し小さいことがわかる. 相同染色体同士2個ずつ並べた図を核型と呼ぶが, 蝶の染色体では, 点状染色体ばかりで相同染色体同士を見分けることができないので, 大方似た染色体を2個ずつ並べたにすぎない. そこでこのような核型及びI又はIIの染色体を大きさの順に並べたものをそれぞれGの仮の核型 temporary-karyotype (t-karyotype), nの仮の核型と呼ぶことにする. マーカーとなる染色体がだいたい見分けられるからである.

n=31 L_1 (矢印) S_2 (短い線) I_{14} (Fig. 1C), II_7 (Fig. 1D), n=31 S_3 (黒線) II_2 (Fig. 1F) が観察された.

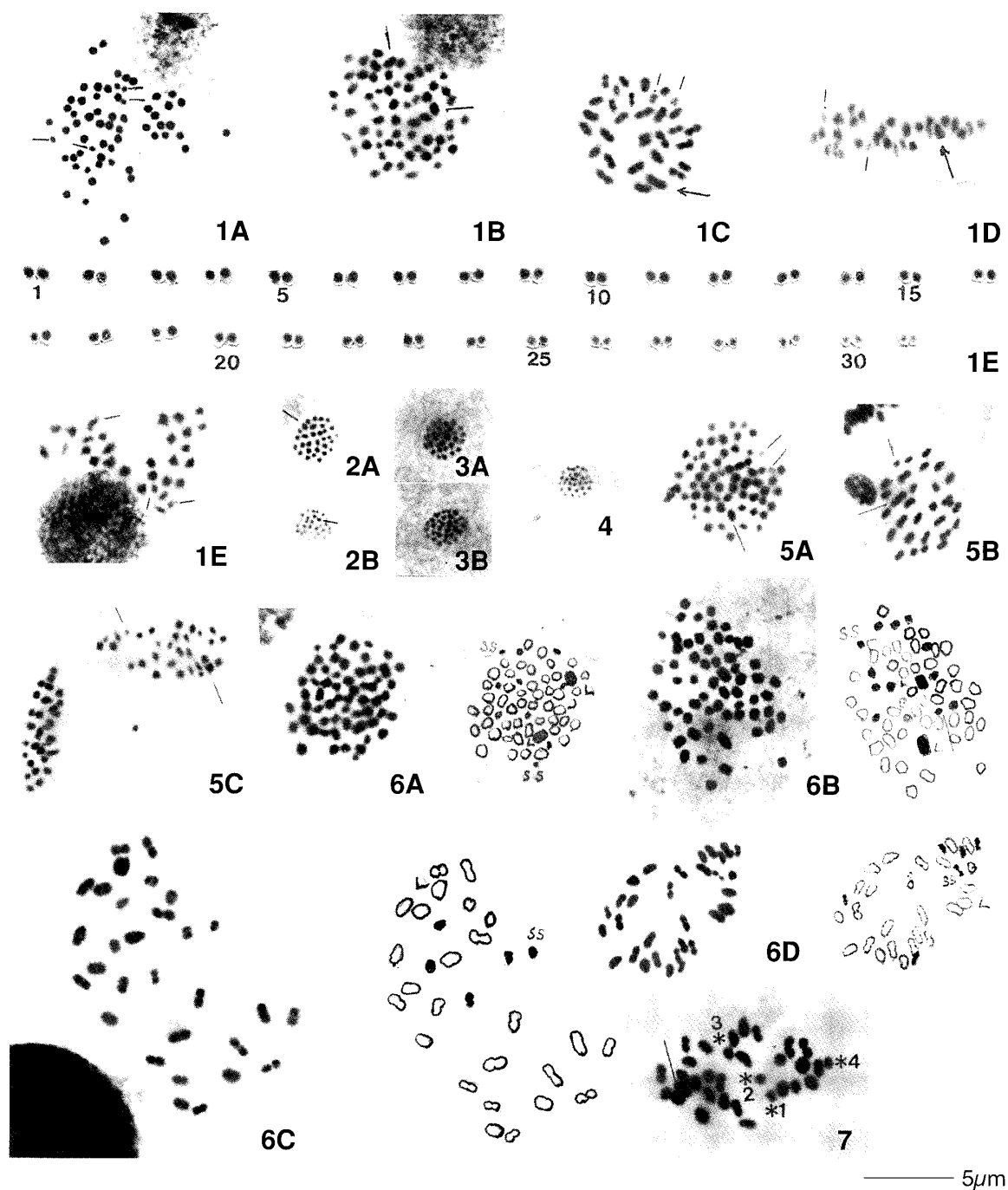
2. *B. napaea altaica* (Grum-Grshimailo)

n=31 I_{14} (Fig. 2A) II_8 (Fig. 2B). いずれもパラフィン法. I, IIともL_1 (黒線) $S_{2\text{-}4}$を含むがパラフィン法では切られた位置により染色体の大きさが異なる. 22細胞のうちSが1番少ないものがSの数に最も近いと思われS_2とするべきかも知れない. n=31はde Lesse (1953) と一致する.

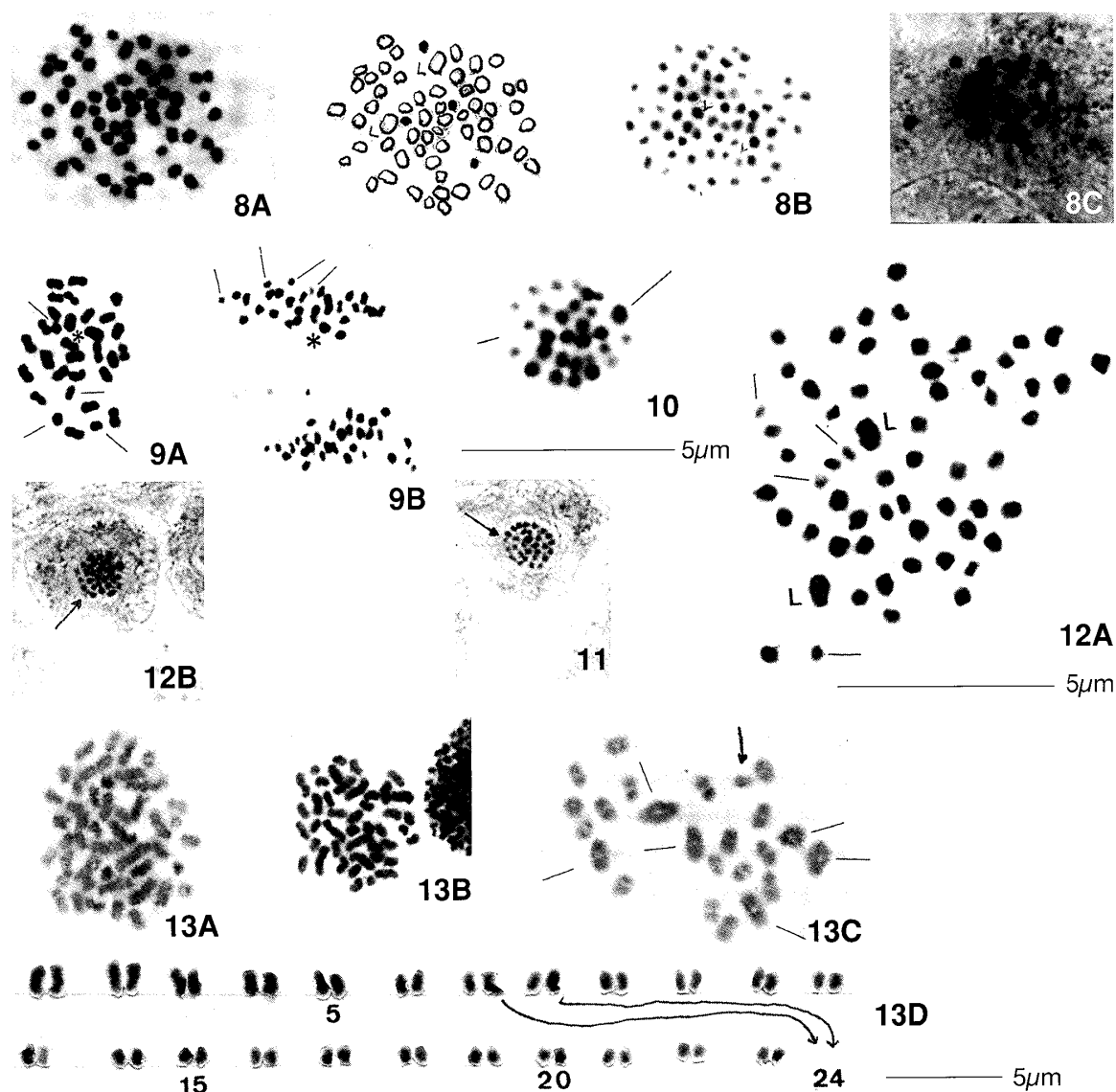
3. *Issoria lathonia* (Linnaeus)

n=30 I_{12} (Fig. 3Aミャンマー産, Fig. 3Bキルギスタン産) II_4. パラフィン法による. L_1 S_3位であるがS_1は特に小型である. 観察細胞数が少なく, パラフィン法によるのでL又はSの数を明記しない. n=30は, Federley (1938) と一致する.

4. *Clossiana angarensis* (Erschoff)

n=31 I_2 II_4 (Fig. 4). パラフィン法による. 観察細胞数も少なく, 染色体像も鮮明ではないが染色体数は確認できる. マーカーとなる大型染色体が1–2個見られたが, 切る位置が変わっても, 小型は大型に切れることはない. 大型染色体の数は多い方がより正確と思われL_2とするべきかも知れない. 本来ならば報告できない結果なのかも知れないが, 32♂を処理し, 1♂で得られた結果でありおそらく二度と調査の機会がない地域の調査結果なので, 敢えて記録した.

Figs 1–7. Chromosomes of some Boloriini fritillaries. 1. *Boloria generator*. A, B. Spermatogonial metaphase $2n$, 62. C. I. D. II, 2-small. F. II, 3-small chromosomes, n, 31. E. Temporary-karytype. Crozier 法. 2. *B. napaea*. A. I. B. II. n, 31 パラフィン法. 3. *Issoria lathonia*. A. I. Myammar. B. I. Kirghizstan. n, 30 パラフィン法. 4. *Clossiana angarensis angarensis*. II, n, 31 パラフィン法. 5. *C. hegemone*. A. G. $2n$, 62. B. I. C. II. n, 31 Crozier 法. 6. *C. erda*. A. G. $2n$, 60 B. G. $2n$, 61. C. I, n, 30. D. I, n, 31 と同トレース. Crozier 法. 7. *C. euphrosyne orphana*. I, n, 32 Crozier 法.

5. *C. hegemone* (Staudinger)

$2n$=62 $L_2S_2G_9$ (Fig. 5A). L (長い線), S (短い線) で示すが, L_2 のうちのもう 1 個は中央右寄りにあるが, 混んでいて指示できない.

Figs 8–13. Chromosomes of some Boloriini fritillaries. 8. *C. freija jakutensis*. A. G, 2*n*, 62, S2-4. B. G, 2*n* 62, S6-8. C. I, *n* 31 Crozier法. 9. *C. oscarus maxima*. A. I. B. II, n, 31. 10. *C. selenis chosensis*. I, *n*, 30 parafin法. 11. *C. iphigenia sachalinensis*. I, *n*, 30 parafin法. 12. *C. thore jezensis*. A. G, 2*n*, 60, Crozier法. B. I, *n*, 31 parafin法. 13. *C. distincta tschukotkensis*. A. G prophase. B. G, metaphase, 2*n*, 48. C. I, *n*, 24. D. Temporary-karyotype.

n=31 L_1 (長い線) S_1 (短い線) I_{22} (Fig. 5B) II_{16} (Fig. 5C).

6. *C. erda* (Christoph)

2n=60 $L_2S_{10}G_{15}$ (Fig. 6A). 染色体が混んでいて指示が難しいので, 右隣にトレース図を示した. 黒く塗りつぶした S_{10} (特に小型 SS_2) と L_2 の位置を示す.

2n=61 L_2 S_{13} (内SS2) G_1 (Fig. 6B), 2n=62 L_2 S_{12} G_2 が観察されたが, 2n=62 は写真が示せなかった. 2n=61 のトレースを右隣に示す. L及びSは塗りつぶしてあり SS_2 の1つは黒線で示した.

n=30 L^1 S_5 I_5 (Fig. 6C), II_3, n=31 L_1 S_6 I_6 (Fig. 6D) II_2. それぞれ右隣にトレースを示し, S を塗りつぶして示した. SS も区別できるかも知れない.

7. *C. euphrosyne orphana* (Fruhstorfer)

n=32 L_1 (黒線) $S_{3\text{-}4}$ (*印) I_1 (Fig. 7). 染色体が重なり染色体数が確定できなかった細胞が4例あり，そのうち2細胞では*1と*4に当たる長楕円形の小型染色体が対合しているように見られるものがあった．またIIは染色体が重なって写真では示せなかったがn=32 II_3, n=31 II_1と観察された．*1と*4がもし対合しにくい相同染色体であったならば，この2個が対合するとn=31となりn=32の異数性は*1, *4の不対合によるものとなる．Fedeley (1938), Lorkovic (1941) は，本種をn=31と報告しているので，本結果とは一致しない．

8. *C. freija jakutensis* (Wnukowsky) アサヒヒョウモン

2n=62 L_2 $S_{2\text{-}4}$ G_{14} (Fig. 8A) L_2 $S_{6\text{-}8}$ G_2 (Fig. 8B). Sの数は未定である．Fig. 8Aの右隣にトレースを示し，S_4を黒く塗りつぶした．Fig. 8Bにおける$S_{6\text{-}8}$は大きさの差が連続的で，Sを特定できない．

n=31 I_1 II_2 (Fig. 8C). I, II共に分裂像は不鮮明であり染色体数を確定できるIIの1例を示した．n=31はFederleyと一致する．

9. *C. oscarus maxima* (Fixsen)

n=31 L_1 (*印) S_4 (線) I_5 (Fig. 9A) II_8 (Fig. 9B). Lは目立つほど大きくはない．

10. *C. selenis chosensis* Matsumura

n=30 L_1 S_1 I_1 (Fig. 10). パラフィン法．L (長い線), S (短い線), S_1が小さすぎるので拡大した．

11. *C. iphigenia sachalinensis* (Matsumura) カラフトヒョウモン

Table 2. Chromosome numbers of Bolorini.

Species	2n	n	remarks	reference
Issoria latonia		30	$L_1S_1SS_1$	Federley (1938), present paper
Boloria pales		30		Lesse (1953)
B. p. korla		31		Saitoh et al. (1986)
B. aquilonaris		30♂, 29–30♀		Federley (1938), Lesse (1953)
B. napaea altaica		31	L_1S_2	Lesse (1953), present paper
B. generator	62	31	2n L_2S_4, n L_1S_2	present paper
B. graeca		31		Lesse (1960)
Preclossiana eunonia ossianus		28		Federley (1938)
P. e. caelestis		28		Maeki & Remington (1961)
Clossiana. s. selene		30		Federley (1938)
C. s. tollandensis		30		Maeki & Remington (1961)
C. s. chosensis		30	L_1S_1	present paper
C. iphigenia sachalinensis		30	L_1	present paper
C. erda	60–62	30, 31	2n $L_2S_{10\text{-}12}$, n L_1S_6	present paper
C. thore scandinavica		30		Federley (1938), Maeki & Remington (1961)
C. t. jezoensis	60	30, 31	2n $L_2S_{2\text{-}4}$, n L_1S_2	present paper
C. titania titania		31		Lesse (1953)
C. t. helena		31		Maeki & Remington (1961)
C. a. angarensis		31	(L_1)	present paper
C. hegemone	62	31	2n $L_2S_{2\text{-}8}$	present paper
C. freija		31		Federley (1938)
C. f. jakutensis	62	31	2n $L_2S_{2\text{-}8}$	present paper
C. oscarus maxima		31	L_1S_4	present paper
C. euphrosyne		31		Federley (1938)
C. e. orpena		32 (31)	$L_1S_{3\text{-}4}$	present paper
C. distincta tschukotkensis	48	24	2n $L_{10\text{-}12}S_2$, n L_6S_1	present paper

n=30 L_1 I_4 (Fig. 11). パラフィン法. 30♂を処理し, 1♂だけで観察された. S (矢印) と思われる1個を含む.

12. *C. thore jesoensis* (Matsumura) ヒメカラフトヒョウモン

2n=60 L_2 $S_{2\text{-}4}$ G_{10} (Fig. 12A). S_4 (線) を示す.

n=30 L_1 S_1 I_4, n=31 L_1 S_1 (矢印) (Fig. 12B). パラフィン法.

2n=60, n=30 と n=31 は別の個体で観察された. n=30 は Federley (1938) と一致し, n=31 は Maeki (1960) と一致する. 本種には本結果のように異数性があるのかも知れない.

13. *C. distincta tschukotkensis* (Wyatt)

2n=48 $L_{10\text{-}12}$ S_2 (Fig. 13A pro-metaphase, 13B metaphase). Lは前中期, 中期で短棒状又は長楕円形であるが, 大きさの差が連続していて仮の核型を Fig. 13D に示すが, 第5までをLとするか, 6までにするかは, はっきりしない.

n=24 L_6 (線) S_1 (矢印) (Fig. 13C), n=24 では, L_6 及び S_1 は鮮明である.

以上の結果を Table 2 に示す.

考　察

小型ヒョウモン類について *Boloria*, *Clossiana*, *Issoria* 3属13種の染色体に関する調査結果を報告した. この結果とこれまでの報告とを加えると4属17種について染色体が調べられたことになる. この結果から *Clossiana distincta*, *C. eunomea* を除く全ての種が n で1個, 2n で2個の大型染色体を含み, 小型染色体も 2n で2以上, n で1–数個含むことが判った. n=30, n=31 に関わらず大型1を含むことから, n=30 における大型1個は n=31 における大型と同祖のものであり, n=31 のうち2個の融合によるものではないと考えられる. n における大型1, 小型1–数個の染色体構成は, この4属に共通する核型構成の特徴としてあげられ, この4属間の近縁さを示すものと考えられる.

ウラギンスジヒョウモン属 *Argyronome* は n=31 を基本数とし (*A. rusiana* n=26 は大型を5含み, 2個ずつの融合によって生じたと考えると n=31 より進化したと考えられる (前木, 1973)). 本グループもまた n=31 が多い. Shirôzu & Saigusa (1973) によるとウラギンスジヒョウモン属と本グループ両者の交尾器の1部に共通する形質があることから両群の同祖性について言及している. このグループの染色体数は n=31 を基本数としていることがわかる. n=31 と n=30 の関係については, *C. erda* や *C. thore* に n=31 と n=30 の2型があるらしいことがわかり, この2型がどのような機構によって生じているのかについて明らかにすることにより n=31 と n=30 の染色体数, 進化の機構もわかる可能性がある.

Proclossiana eunomia n=28 Maeki & Remington (1960) では核型に関しほとんど言及していない. n=28 は n=31, 30 とはあまり染色体数は離れていないが, *A. rusiana* のように核型の起源が同じと考えられる要素がないので重要な形質の違いとして指摘される. *P. eunomia* が *Clossiana* ではなく *Proclossiana* として別属に扱われていることを支持している. また *C. distincta* 2n=48 $L_{10\text{-}12}$ S_2, n=24 L_6 S_1 は n=31 (30)とはかけ離れた染色体数に当たるが, 2n $L_{10\text{-}12}$, n L_6 の大型がそれぞれ2個の染色体の融合によって生じたと考えると 48+10–12=58–60, 24+6=30, すなわち 2n=58–60, n=30 からの進化ということになる. *C. distincta* が *Clossiana* に含められる現在の分類を支持する結果である.

C. euphrosyne n=32 については観察例が少なく分裂像もよくない. IIにおいて n=32 が観察されたので, Iについて n=32 とした. この n=31 及び n=32 の異数性についても観察数を更に積み重ね, 成因も含めて再調査する必要がある. この種が n=32 L_1 であるならば大型1個が融合によるものではなく, このグループに共通する核型の特徴としてその成因に興味が持たれる.

表2から *Boloria* 属にも *Clossiana* 属にも n=30 の種がある. n=30 と n=31, そして 30, 31 の異数性を示す種では核型進化が全く偶然に起こったものか, また系統関係とつながりを持つものかなど, 踏み込んだ調査が必要であり, 再調査を含め未調査の種の染色体調査の積み重ねを期待する.

謝　辞

種名同定ならびに論文についての数々の御助言御指導いただいた高橋真弓氏に心から厚くお礼申し上げる．また，数度に渡るロシア調査隊の皆様，モンゴル，キルギスタン調査隊の皆様，ミャンマー調査隊の皆様には多くのご協力をいただいた．小型ヒョウモン類の染色体研究は師の故斎藤和夫博士のやり残された分野である．これらを完成するために，これからもご協力御指導をお願いし，記して感謝の意を表する．

引用文献

阿部　東, 2005. 大型ヒョウモン類8種の染色体数. *Celastrina* **40**: 33–36.

Federley, H., 1938. Chromosomen zahlen fimnlandischer Lepidopteren. 1. Rhoparocera. *Hereditas* **24**: 397–464.

Gorbunov, P., 2001. *The Butterflies of Russia—Classification*, *Genitalia*, *Key for Identification* (Lepidoptera: Hesperioidea and Papilionoidea). 320 pp. Thesis, Ekaterinburg.

Lesse, H., de, 1953. Formules chromosomiques de *Boloria aquilonaris* Stichel, *B. pales* D. et Schiff., *B. napaea* Hoffm. Et quelques autres Lépidoptères Rhopaloces. *Rev. franc. Lépid.* **14**: 24–26.

————, 1960. Spéciation et variation chromosomique chez les lépidoptères. *Ann. sci. nat. zool. Biol. Anim.* (12) **2**: 1–223.

Lorkovič, Z., 1941. Die Chromosomenzehlen in der Spermatogenese der Tagfalter. *Chromosoma* **2**: 155–191.

前木孝道, 1960. 日本産タテハチョウの染色体研究. 遺伝学雑誌 **36** (3–4): 137–146.

Maeki, K. & C. L. Remington, 1961. Studies of the chromosomes of North American Rhoplocera 4. Nymphalinae, Charaxiinae, Libytherinae. *J. Lepid. Soc.* **14**: 179–201.

斎藤和夫・阿部　東・熊谷義則 1986. インド，シャム-アンド-カシミール州の蝶5種の染色体. 蝶と蛾 **37**: 205–208.

Shirôzu, T. & T. Saigusa, 1973. A genetic classification of the *Argynnis* and its allied genera (Lepidoptera, Nymphalidae). *Sieboldia* **4**: 99–114.

Summary

Male germ-line chromosomes were examined in the following species of Boloriini, *Boloria napaea*, *B. sipora*, *Clossiana angarensis*, *C. hegemone*, *C. erda*, *C. euphrosyne*, *C. freija*, *C. oscarus*, *C. selenis*, *C. iphigenia*, *C. thore*, *C. distincta* and *Issoria lathonia*. The diploid ($2n$) and haploid (n) complement consists of $2n$=62, n=31 dot-shaped chromosomes in *Boloria sipora* ($2n$, n), *B. napaea* (n), *Clossiana angarensis* (n), *C. hegemone* ($2n$, n), *C. freija* ($2n$, n), *C. oscarus* (n), and *Issoria lathonia* (n), $2n$=60, n=30 in *C. selenis* (n), *C. iphigenia* (n), *C. thore* ($2n$, n), n=32 in *C. euphrosyne*, $2n$=48, n=24 in *C. distincta*. The n=31 or $2n$=60, n=30 of chromosome number in *Boloria*, *Clossiana* and *Issoria* comprise two ($2n$), or one (n) element which are distinguished by its large size, and $2n$=48, n=24 chromosome number in *C. distincta* comprise 10–12 ($2n$), 5–6 (n) element of large and two ($2n$), or one (n) element of small size.

(Accepted December 28, 2007)

Published by the Lepidopterological Society of Japan,
5-20, Motoyokoyama 2, Hachioji, Tokyo, 192-0063 Japan